

دانشکده پیراپزشکی  
پایاننامه کارشناسی ارشد  
گروه بیوتکنولوژی پزشکی  
عنوان:

بررسی اثر بتاتروفین نوترکیب بر روی دو ژن Bax و Bcl-۲ در رده سلولی HepG2 کبدی

استاد راهنما

دکتر نعمت الله غیبی

دکتر حسین احمدپور یزدی

استاد مشاور

دکتر صفر علی علیزاده

نگارنده

مریم نوائیان

تابستان ۹۸

چکیده:

مقدمه: یکی از شایعترین سرطانهای بدخیم در جهان سرطان کبد (Hepatocellular carcinoma) است و از نظر رتبه بندی جز ششمین سرطان رایج در جهان و سومین سرطانی که منجر به مرگ و میر میشود. در حال حاضر درمانی برای این سرطان وجود ندارد و تشخیص دشواری دارد. در این مطالعه اثر پروتئین بتاتروفین نوترکیب بر روی دو ژن Bax و Bcl-2 در رده سلولی HepG2 کبدی انسانی مورد مطالعه قرار گرفت. مواد و روشها: سل لاین HepG2 با غلظتهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۵۰، ۵۰۰، ۶۵۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ نانومولار بتاتروفین تیمار شده و در بازه های زمانی ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت سلولها برداشت شده و برای بررسی اثرات سایتو توکسیک بتاتروفین از تست MTT استفاده شد. سپس برای بررسی بیان ژنهای Bax و Bcl-2، RNA سلول بوسیله کیت استخراجشده و سنتز cDNA صورت گرفت و بیان ژنهای Bax و Bcl-2 با تکنیک Q-RT-PCR مورد آنالیز قرار گرفت و تفسیر نتایج با برنامه ۷ prism صورت گرفت. یافته ها: بر طبق نتایج به دست آمده از آزمودن MTT، پروتئین نوترکیب بتاتروفین به طور افزایشی وابسته به غلظت، اثر سایتو توکسیک داشته است و بر طبق این نتایج برای تعیین صحیح چگونگی بیان ژنهای Bax و Bcl-2، غلظتهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ نانومولار برای بیان ژن مورد بررسی قرار گرفت. ژن Bax در غلظت ۱۰۰۰ بیشترین معناداری را داشت و ژن Bcl-2 با افزایش غلظت کاهش بیان را نشان داد. نتیجه گیری: ژن Bax که یک ژن پروآپتوتیک است، در غلظت نانومولار افزایش بیان داشته است، ژن Bcl-2 که انتی آپتوتیک است، با افزایش غلظت کاهش بیان داشته است که میتواند نشاندهنده این باشد که افزایش غلظت پروتئین بتاتروفین سبب آپتوز سلولهای کبدی شده است. کلیدواژهها: سل لاین HepG2، پروتئین بتاتروفین نوترکیب، Bcl-2، Bax

**Background:** One of the most common malignant cancers in the world is liver cancer (Hepatocellular carcinoma). It is the sixth rank among the most common cancers in the world and the third leading cause of death. There is currently no cure for this cancer and it is difficult to diagnose. In this study, we investigated the effect of recombinant betatrophin protein on two Bax and Bcl-2 genes in human hepatic HepG2 cell line.

**Methods:** HepG2 cell lines were treated with 50, 100, 200, 350, 500, 650, 800 and 1000 nM betatrophin concentrations and harvested at 48, 72 and 96 h time intervals and MTT assay was used to evaluate the cytotoxic effects of betatrophin. Then, to investigate the expression of Bax and Bcl-2 genes, the cell RNA was extracted by kit and cDNA synthesis was performed. The expression of Bax and Bcl-2 genes was analyzed by Q-RT-PCR technique and the results were interpreted with prism 7 software.

**Results:** According to the results of the MTT assay, the recombinant betatrophin had a cytotoxic effect in the concentration of 1000 nM and the highest percentage of mortality. According to these results the treatment concentrations of 100, 200, 500, 800 and 1000 nM were examined for gene expression. The Bax gene expression was significantly increased at 1000nM and the Bcl-2 gene expression was decreased in a concentration dependent manner.

**Conclusion:** The Bax gene, as a pro-apoptotic gene, increased at betatrophin treatment concentration of 1000 nM, the anti-apoptotic Bcl-2 gene was decreased gradually with increasing concentration, which may indicate the apoptic effect of betatrophin on HpG2 cell lines in agreement to whatever we find in the cytotoxicity by MTT assay. Keywords: HepG2 cell line, Recombinant betatrophin protein, Bax, Bcl-2

Department of Medical Biotechnology

School of Paramedical Sciences

Qazvin University of Medical Sciences

Evaluation of the effect of recombinant betatrophin on Bax and Bcl-2 genes

in hepatic HepG2 cell line

:Supervisors

Dr Nematollah Gheibi

Dr Hosein Ahmadpour Yazdi

Advisor: Dr Safarali Alizadeh

By: Maryam Navaeian

Summer 98